

# ATEROSKLEROOTTISEN PLAKIN HISTOLOGISET LÖYDÖKSET SEPELVALTIMOSSA

Irene Visti

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Tampereen yliopisto

Lääketieteen yksikkö

Maaliskuu 2016

---

Tampereen yliopisto  
Lääketieteen yksikkö  
Oikeuslääketieteen tutkimusryhmä

IRENE VISTI: ATEROSKLEROOTTISEN PLAKIN HISTOLOGISET LÖYDÖKSET  
SEPELVALTIMOSSA

Kirjallinen työ, 26 s.  
Ohjaaja: professori Pekka Karhunen

Maaliskuu 2016

Avainsanat: ateroskleroosi, American Heart Association (AHA) -leesiotyyppiluokitus,  
sidekudoskatto (fibrous cap), lymfosyytit

---

Ateroskleroosi on tunnettu tulehduksellisena sairautena. Tutkimustyötä sairauden patogeneesin selvittämiseksi on tehty vuosikymmeniä, mutta taudin lukuisat mekanismit ja aiheuttajat ovat edelleen osittain hämärän peitossa.

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli tarkastella ateroskleroottisten plakkien histologisia piirteitä sekä lumenin ahtaumaosuutta. Ateroskleroottiset plakit luokiteltiin Amerikan sydänyhdistyksen (American Heart Association) suosittelman histologisen luokituksen mukaisesti. Tulehduksen osuutta ateroskleroosiin arvioitiin kiinnittämällä huomiota tulehdussoluesiintymiin. Lisäksi selvitettiin muuttujien suhdetta ikään, BMI:iin ja sukupuoleen. Aineistona oli 111 vainajan sepelvaltimonäytteet, jotka oli kerätty Tampereella oikeuslääketieteellisten ruumiinavausten yhteydessä vuosina 2001-2004.

Valtaosassa näytteitä (88%) oli ateroskleroottisia muutoksia. Sekä miesten että naisten näytteissä suurin yksittäinen leesiotyyppi oli kalkkeumaa sisältävä leesiotyyppi Vb (miehillä 25,0% ja naisilla 35,7% näytteistä). Lymfosyyttien esiintyvyydessä todettiin olevan yhteys leesiotyyppin morfologian etenemiseen ( $p<0,001$ ). Lymfosyyttien määrällä ja sijainnilla oli yhteys myös ahtauman vaikeusasteeseen. Ahtauman vaikeutuessa lymfosyyttien määrä lisääntyi ja niitä sijaitsi perifeerisemmin adventitiassa ( $p<0,001$ ). Kalkkeutuneissa plakeissa todettiin ohuempi sidekudoskatto ( $p=0,026$ ). BMI:n ja AHA-leesiotyyppien välillä ei yhteyttä löytynyt ( $p=0,835$ ).

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -ohjelmalla Tampereen yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti.

# SISÄLLYSLUETTELO

<b>JOHDANTO</b>	<b>1</b>
<b>1 KORONAARIVALTIMOIDEN ANATOMIA</b>	<b>2</b>
1.1 TOPOGRAFIA	2
1.2 TERVEEN VALTIMON RAKENNE	3
1.2.1 TUNICA INTIMA	4
1.2.2 TUNICA MEDIA	5
1.2.3 TUNICA ADVENTITIA	5
<b>2 ATEROSKLEROOSSI</b>	<b>5</b>
2.1 ATEROSKLEROOTTISEN PLAKIN PATOGENEESI JA AHA-LEESIOTYYPPILOUKITUS	6
2.2 TULEHDUSTEORIA	10
2.2.1 ATEROSKLEROOSIN TULEHDUKSELLISET MEKANISMIT	10
2.2.2 INFEKTIO JA ATEROSKLEROOSSI	11
<b>TUTKIMUS</b>	<b>13</b>
<b>1 AINEISTO</b>	<b>13</b>
<b>2 MENETELMÄT</b>	<b>13</b>
2.1 NÄYTTEIDEN KERÄYS, SÄILYTYS JA KÄSITTELY	13
2.2 HISTOLOGISET NÄYTTEET	14
2.3 TULOSTEN ANALYSOINTI JA TILASTOLLINEN KÄSITTELY	16
<b>3 TULOKSET</b>	<b>16</b>
3.1 AINEISTON KUVAUS	16
3.2 HISTOLOGISET LÖYDÖKSET	18
<b>POHDINTA</b>	<b>21</b>
<b>LÄHDELUETTELO</b>	<b>25</b>

# JOHDANTO

Ateroskleroosi eli valtimonkovettumatauti on maailmanlaajuisesti yleisin yksittäinen kuolemaa aiheuttava tekijä. Taudin tunnetuimmat ja suurinta haittaa aikaansaavat pääte-elintapahtumat ovat sydän- ja aivoverenkiertohäiriöt, erityisesti infarktit. (1) Suomessa vuonna 2013 sydän- ja verisuonitaukeista johtuvia kuolemia oli hieman alle 20 000 eli 38 % kaikista kuolemista. Näistä puolet oli iskeemisestä sydänsairaudesta johtuvia. (2) Sydän- ja verisuonitautien aiheuttamat kustannukset yhteiskunnalle ovat suuret. Kustannukset koostuvat lääkehoidosta, sairauspoissaoloista, akuuttitapausten invasiivisesta sairaalahoidosta, muista sosiaali- ja terveysmenoista sekä kuntoutuksesta. (3)

Yhteiskunnallisen kuormituksen vuoksi ateroskleroosi on pitkään ollut keskeinen tutkimuskohde. Tautitaakan keventäminen olisi merkittävää, paitsi valtakunnallisesti talouden näkökulmasta, myös yksilötasolla laatupainotteisten ikävuosien lisäämisessä. Taudin riskitekijöitä tunnetaan useita: ikä, perimä, miessukupuoli, obesiteetti, hypertensio, sokeri- ja kolesteroliaineenvaihdunnan häiriöt, tupakointi, istuminen ja vähäinen liikunta. Elämäntapavalistuksen ja lääkitysten myötä Suomessa on kahdenkymmenen vuoden aikana (1990 – 2010) nähty yli 40 %:n lasku ikävakioidussa sydän- ja verisuonitautimortaliteetissa, vaikkakin kuolintapausten absoluuttinen määrä on kasvanut ikäluokkien kasvaessa. (1)

Ateroskleroosi on jo vuosikymmenien ajan tunnistettu tulehdukselliseksi eli inflammatoriseksi sairaudeksi. Tulehduksen aiheuttajia on lukuisissa tutkimuksissa pyritty selvittämään. Kyseessä on monimutkainen ja monitekijäinen prosessi, jolle tuskin vain yhtä selittävää tekijää löytyy. Ateroskleroosin syntyyn tai pahenemiseen liittyvissä tutkimuksissa on selvitetty niin kroonisia tulehdustiloja, kuten esimerkiksi suuren rasvakudosmäärän aiheuttamaa matala-asteista tulehdusta, kuin bakteerien aiheuttamia tulehdusvasteita. (4)

Tämän tutkimuksen tarkoituksena on tarkastella ateroskleroottisten plakkien histologisia löydöksiä sepelvaltimoissa. Plakkien vaikeusastetta arvioitiin American Heart Associationin (AHA) suositteleman leesiotyypiluokituksen avulla. Sepelvaltimoiden luumenien ahtaumaosuuksia mitattiin tietokoneohjelman avulla. Lisäksi arvioitiin muuttujien keskinäisiä yhteyksiä sekä niiden suhdetta ikään, BMI:iin ja sukupuoleen.

# KIRJALLISUUSKATSAUS

## 1 Koronaarivaltimoiden anatomia

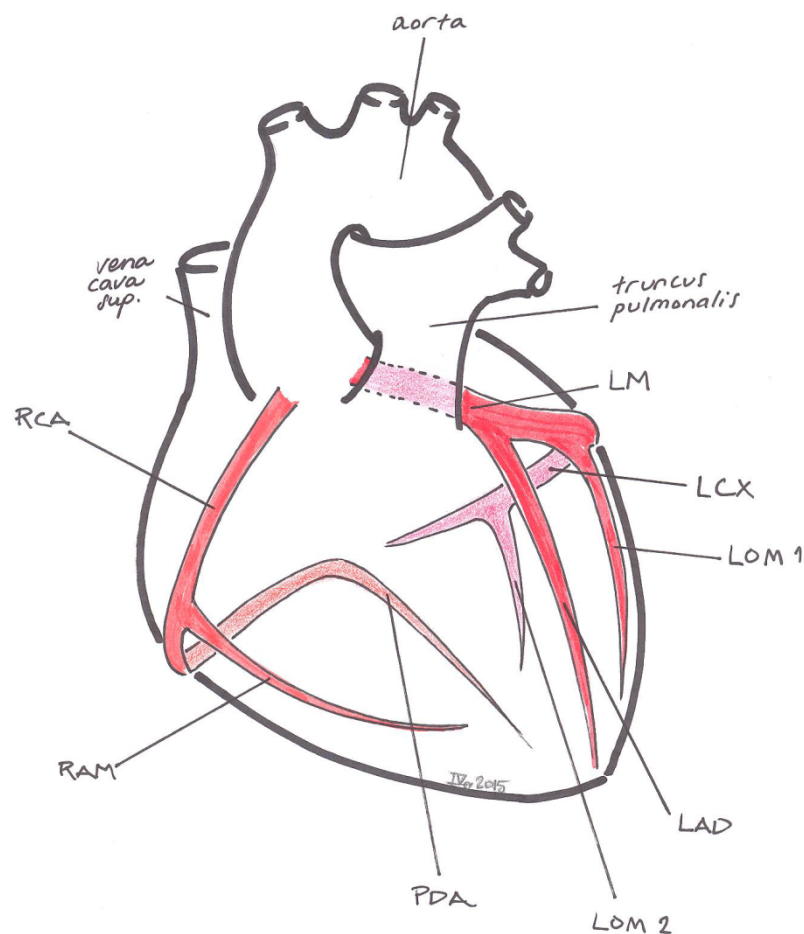
Koronaari- eli sepelvaltimot verisuonittavat sydänlihasta. Niitä pitkin myokardiumiin kulkeutuu ravinto- ja happirikasta verta. (5,6) Valtimoiden tehtävä on pääasiassa mekaaninen. Ne johtavat verta ja vaimentavat pulsaatioita. (7) Sepellaskimoiden kautta sydänlihaksesta poistuu kuona-aineita ja hiilidioksidia. Sepellaskimoiden veri kulkee koronaarisinuksen kautta oikeaan eteiseen. (5) Sepelvaltimoissa esiintyy usein ateroskleroottisia muutoksia. Tämä saattaa johtua siitä, että ne ovat mutkittelevia suonia, jotka tukeutuvat heikosti ympäröiviin kudoksiin. (7)

### 1.1 Topografia

Koronaarivaltimot saavat alkunsa kahtena pääsuonena aortan tyvestä, aorttaläpän kraniaalipuolelta. Oikea sepelvaltimo (arteria coronaria dextra, right coronary artery, RCA) lähtee nousevan aortan oikeasta sinuksesta, kulkee keuhkovaltimorungon takaa ja kiertää sydämen oikealle puolelle sydämen oikean sepeluurteen myötäisesti. Se jatkaa kulkuaan sydämen taakse ja suonittaa oikean eteisen lisäksi kammioväliseinän eli septumin takaosaa (ramus interventricularis posterior, posterior descending artery, PDA). Valtaosalla ihmisistä myös sinus- ja AV-solmukkeiden suonitus on lähtöisin oikeasta sepelvaltimosta, mutta yksilöllistä vaihtelua on olemassa. Oikeasta sepelvaltimosta haarautuu sydämen kärkeä kohti lähtevä haara (ramus marginalis dexter, right acute marginal artery, RAM), joka huolehtii oikean kammioseinän verenkierrosta. (8)

Vasen sepelvaltimo (arteria coronaria sinistra, left coronary artery, LCA) saa alkunsa nousevan aortan vasemmasta sinuksesta. Se kulkee keuhkovaltimorungon vasemmalta puolen vasempaan sepelvaltimourteeseen. Vasemman sepelvaltimon päähaara (left main artery, LM) on lyhyt ja haarautuu laskevaan ja kiertävään haaraan. Laskeva haara (ramus interventricularis anterior, left anterior descending artery, LAD) kulkee kohti sydämen kärkeä suonittaen kahta kolmasosaa kammioden väliseinästä, sekä osittain oikean ja vasemman kammion etuseiniä. Siitä haarautuu lisäksi niin kutsuttuja diagonaalisuonia, jotka huolehtivat vasemman kammion etuseinämän verenkierrosta. Kiertävä haara (ramus circumflexus, left circumflex artery, LCX) jatkaa kulkuaan vasemmassa sepeluurteessa ja kiertyy sydämen taakse. Osalla ihmisistä sinus- ja AV-solmukkeiden verenkierto on lähtöisin tästä suonesta. Kiertävästä haarasta erkautuu vasemman kammion

takaseinää suonittavia haaroja (ramus marginalis sinister, left obtuse marginal artery, LOM). (8)  
 Koronaarivaltimoiden topografia ja pääsuonet on esitetty kuvassa 1.



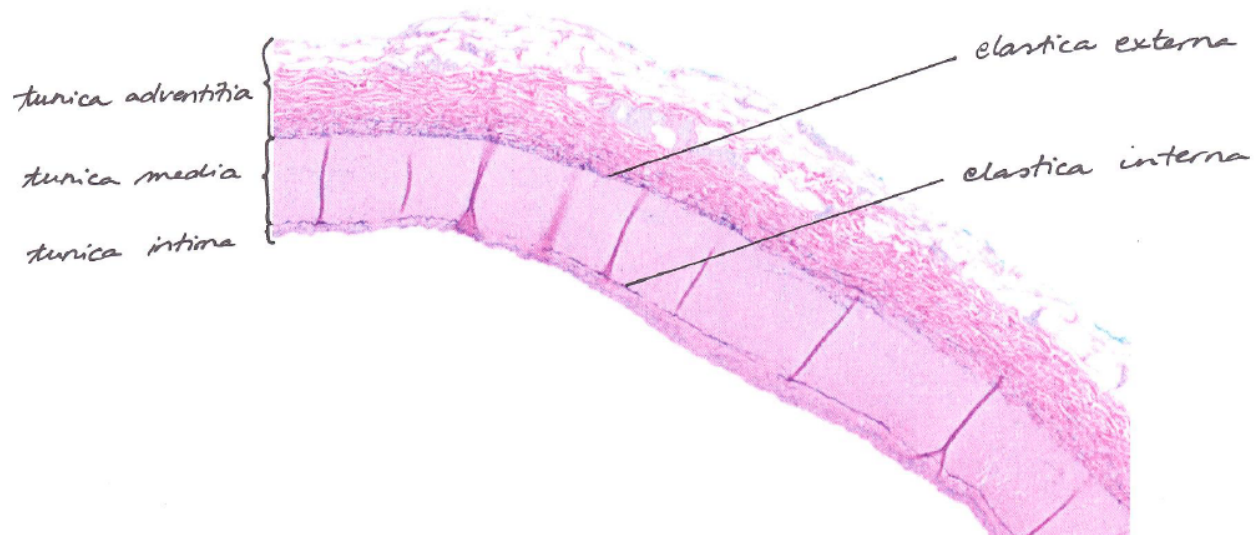
**Kuva 1: Oikean ja vasemman sepelvaltimon kulku**

**Oikea sepelvaltimo (RCA):** RAM ≈ oikea marginaalihaara; PDA ≈ taakselaskeva haara

**Vasen sepelvaltimo (LCA):** LM ≈ päähaara; LAD ≈ laskeva haara; LCX ≈ kiertävä haara; LOM1&2 ≈ reunahaaroja

## 1.2 Terveen valtimon rakenne

Valtimon seinämä koostuu kolmesta kerroksesta, jotka ovat nimeltään intima, media ja adventitia (kuva 2). Kerroksia erottaa elastista kudosta olevat kalvot. Intiman ja median välissä kulkee sisempi kimmokalvo (elastica interna). Elastica externa eli ulompi kimmokalvo erottaa vastaavasti median adventitiasta. Kimmokalvot muodostuvat elastiinilamelleista. Mitä korkeampi paine kohdistuu suonen seinämään, sitä useampia elastiinilamelleja muodostuu. Lamelleissa on aukkoja eli fenestroja, jotka mahdollistavat aineenvaihdunnan suonen eri kerrosten välillä. (9)



**Kuva 2: Valtimoseinän rakenne**

Verhoff van Gieson -väriäys, 10x suurennos

### 1.2.1 Tunica intima

Intima on suonen luumenia lähinnä oleva kerros. Se koostuu suonen seinämänä toimivasta endoteelisolukerroksesta sekä sen alla olevasta tyvikalvosta. Tyvikalvon alla on sepelvaltimossa hyvin ohut subendoteelinen kerros, jota tuskin terveessä suonessa erottaa. Kerros voidaan teoreettisesti jakaa kahteen. Endoteelisolukkoa lähimpänä on proteoglykaanikerros ja tämän alla on muskuloelastinen kerros, jossa on nimensä mukaisesti sileälihassoluja ja elastisia säikeitä. (9,10) Sisempi kimmokalvo voidaan katsoa kuuluvan intiman uloimmaksi (9) tai median sisimmäksi (10) osaksi.

Endoteelisolut ovat normaalisti järjestäytyneet yhdeksi jatkuvaksi kerrokseksi, joka vuoraa suonta, muodostaen sen seinämän. Ne ovat kiinnittyneet toisiinsa tiiviillä liitoksilla ja aukkoliitoksilla. (9,10) Endoteelillä on merkittävä osa veren homeostaasin säilyttämisessä ja verisuonen toimintojen säätelyssä. Solut pystyvät tarvittaessa tuottamaan esimerkiksi sidekudoksen komponentteja, sekä kemotaktisia aineita, kuten valkosolujen migraatiota edistäviä molekyylejä eli adheesiomolekyylejä. (9-11) Endoteeli toimii valikoivana esteenä veressä olevien ainesosien ja kudosten välillä. Se vaikuttaa tromboosimuodostukseen sekä verisuonten periksiantavuuteen ja jäntevyyteen muun muassa prostasykliini tuotannon kautta. Tarvittaessa endoteeli on myös aktiivisessa roolissa tulehdusmediaattorina. (9,10)

Plasmaproteiinit pystyvät läpäisemään endoteelin (10). Ne kulkeutuvat sepelvaltimon seinämän läpi, päätyen suonta ympäröiviin vasa vasorum –laskimoihin (12). Normaaliolosuhteissa kudoks ei kuitenkaan tue leukosyyttien migraatiota suuressa määrin. Se ei myöskään normaalisti edistä verihiutaleiden takertumista eikä verisuonitukoksen syntymistä. Endoteelisolujen luumenin puoleisella pinnalla on lukuisia reseptoreita muun muassa lipoproteiineille ja insuliinille. (10)

Endoteelisolujen ja sileälihassolujen lisäksi terveestä intimasta voi löytyä yksittäisiä makrofageja. Sieltä saattaa löytyä myös syöttösoluja sekä mahdollisesti lymfosyytteja. (10)

### **1.2.2 Tunica media**

Media on valtimon lihaskerros, jonka päätehtävänä on säädellä valtimon halkaisijaa ja tätä kautta määrittää suonessa virtaavaan veren määrä ja vaimentaa pulssiaallon aiheuttamia iskuja. Suurissa valtimoissa, esimerkiksi aortassa, media on paksu ja sisältää myös useita elastisia kerroksia. Sepelvaltimot kuuluvat keskikokoisten eli lihasvaltimoiden ryhmään. Niiden media koostuu kahdesta kehästä järjestäytyneestä sileälihassolukerroksesta. Sepelvaltimoiden median rakenteesta löytyy myös kollageenisäikeitä sileälihassolujen joukosta. Kollageeni ja mahdolliset kimmosäikeet ovat lihassolujen tuottamia. Tunica media rajautuu ulompaan kimmokalvoon. (9)

### **1.2.3 Tunica adventitia**

Valtimon uloimman kerroksen muodostaa adventitia, joka sijaitsee ulomman kimmokalvon ulkopuolella. Lihasvaltimoissa adventitia on lähes yhtä paksu kuin media. Kerros koostuu kollageeni- ja kimmosäikeistä, yksittäisistä sidekudossoluista eli fibroblasteista ja rasvasoluista. Adventitiassa on uppoutuneena hermoja sekä vasavasorum-verisuonia, jotka verisuonittavat sepelvaltimoita. (9)

## **2 Ateroskleroosi**

Ateroskleroosi kehittyy vuosikymmenien saatossa. Ateroskleroosia edeltäviä varhaisia merkkejä eli rasvajuosteita on löydetty jo pieniltä lapsilta. Rasvajuosteet eivät aina kehity fibroottisiksi, ateroskleroottisiksi plakeiksi. Tähän vaikuttavat perimä ja elintavat. Ateroskleroottisten plakkien syntyä puoltavat muun muassa hyperkolesterolinemia, hypertensio, tupakointi, diabetes ja ylipaino.



Plakkien syntyä voidaan estää tai ainakin hidastaa terveellisellä ruokavaliolla, liikunnalla ja statiinilääkityksellä. (13)

## 2.1 Ateroskleroottisen plakin patogeneesi ja AHA-leesiotyypiluokitus

Ateroskleroottisia plakkeja esiintyy useimmiten suurissa ja kimmoisissa sekä keskisuurissa lihasvaltimoissa (14). Plakki on epäsymmetrinen paikallinen intiman paksuuntuma. Niitä muodostuu valtimoissa tyypipaikkoihin, yleensä virtausrasitukselle alttiisiin kohtiin, joissa on virtauksesta johtuen adaptiivista intiman paksuuntumaa. Plakit eivät kuitenkaan rajoitu vain näihin alueisiin, vaan edenneessä taudissa plakkeja nähdään myös muualla valtimon seinämässä. (10)

Sary ym. (1995) ovat kehittäneet luokitteluasteikon, jota Amerikan sydänyhdistys (AHA) suosittelee arvioidessa ateroskleroottisten plakkien histologista rakennetta. Plakin vaikeusastetta voidaan arvioida histologisten piirteiden avulla. Asteikko jakaa plakit kuuteen eri leesiotyyppiin (tyypit I – VI), joista kahdessa luokassa on lisäksi alaluokkia. (15) Luokittelua on kuitenkin kritisoitu ja vaihtoehtoinen luokittelu esitetty. Vaihtoehtoisessa luokituksessa on tarkemmin paneuduttu plakin repeytymiselle altistavien tekijöiden arvioimiseen. (16)

Ateroskleroottisia plakkeja edeltää peruutettavissa olevat valtimoseinämuutokset. Varhaisessa vaiheessa LDL (low density lipoprotein) -partikkelit kulkeutuvat verenkierrasta intimaan. (13) Kerääntyessään (leesiotyyppi I) ne muodostavat rasvajuosteita, jotka koostuvat lipoproteiineista ja kolesteroliestereistä. Leesiotyypissä II rasvajuosteista löytyy makrofageja, joiden sisälle on kerääntynyt lipidejä. Näitä kutsutaan vaahtosoluiksi. Rasvajuosteen koko tyypillisesti kasvaa rakenteellisten muutosten edetessä. Pieniä erillisiä lipidikertymiä alkaa esiintyä myös solujen ulkopuolella (leesiotyyppi III) (kuva 3). (10,15)

Leesiotyyppejä IV-VI pidetään pitkälle edenneinä (kuva 4). Muuntuessaan ateroomaksi (leesiotyyppi IV) lipidikertymät ovat yhtyneet ja tällöin plakissa on selkeä lipidikeskus, joka voi sisältää kolesterolikiteitä. Tässä vaiheessa valtimon sisämitta pysyy lähellä normaalia. Intiman proteoglykaanikerros paksuuntuu, muodostaen sidekudoskaton (leesiotyyppi Va). Plakkia voidaan kutsua fibroateroomaksi. (15) Sileälihassoluja vaeltaa mediasta proteoglykaanikerrokseen vasteena kemokiineille, joita muun muassa makrofagit tuottavat. Sileälihassolut tuottavat kollageenia ja hiljalleen intima fibrotisoituu. Plakin sisälle voi kertyä nekroottista kudosta kuolleiden makrofagien ja sileälihassolujen jäänteistä (13). Kalkkeuma on leesiotyypille Vb ominainen piirre. Leesiotyypissä Vc lipidikeskus on olematon ja plakki on voimakkaasti fibrotisoitunut. (15)

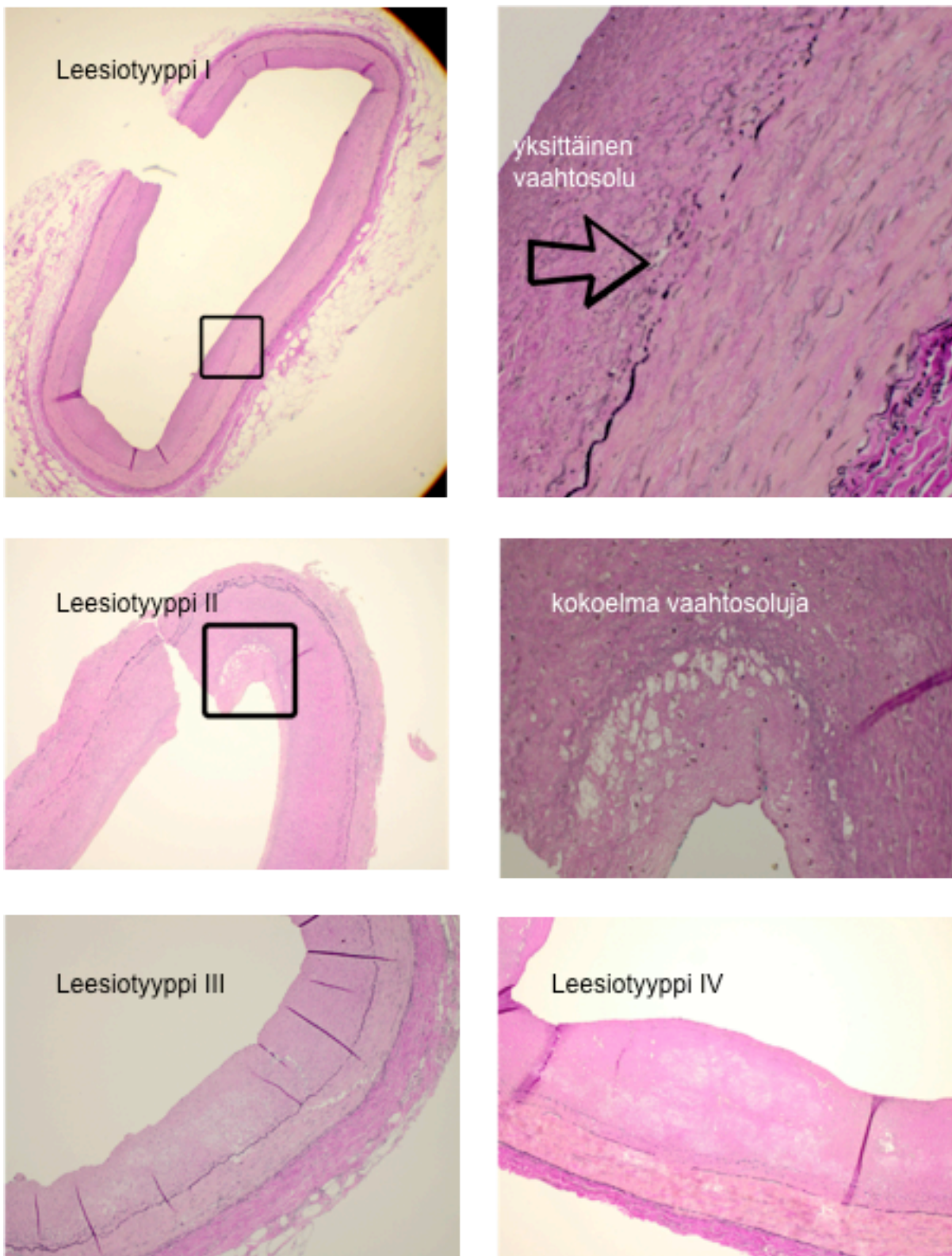
Plakki voi kasvaa myös valtimon media- ja adventitiakerrokseen. Valtimo kompensoi plakin tilaa vievää prosessia alkuun kasvattamalla ulkomittansa. Hemodynaamisia vaikutuksia alkaa näkyä plakin viedessä noin 40% valtimon lumenin pinta-alasta, jolloin myös sisämitta alkaa ahtautua. Uudissuonitusta saattaa muodostua suuriin plakkeihin. (13)

Komplisoituneena leesionä pidetään tyypin VI plakkia, jossa voi olla endoteelin rikkoumaa, hematoomaa, verenvuotoa tai trombimuodostusta. Endoteelissä voi olla mikroskooppisen pienen haavauma eli fissuura tai hiertymä (eroosio). Haavauma voi myös olla niin suuri, että rasvaydin paljastuu. Tuloksena on hyytymiskaskadin ja verihiutaleiden aktivoituminen, jonka johdosta suonen seinämään muodostuu trombi. (15) Pieniä trombeja voi muodostua samaan plakkiin useita kertoja vuosien varrella ilman kliinisiä oireita. Vaurion, ja vastaavasti muodostuneen trombin, ollessa suuri voi lopputuloksena olla potilaan yhtäkkinen sydänkuolema eli sydänäkkikuolema. (13)

Plakit jaotellaan stabiileihin ja epästabiileihin sidekudoskaton (fibrous cap) paksuuden perusteella. Mitä ohuempi sidekudoskatto on, sitä suurempi on endoteelin vaurioitumisriski. (17) Suuri rasvaydin, kalkkeutuneet saarekkeet, nekroottiset alueet, uudissuonitus plakin sisällä sekä inflammatioon viittaavat löydökset (suuri määrä makrofageja, dendriittisoluja ja aktivoituneita T-soluja) ovat muita epästabiilin, herkästi vaurioituvan plakin tyyppiä. (13,15,17-19)

Tyypillinen vaurioitumisalue on plakin hartia-alue, eli terveen ja sairaan seinämän yhtymäkohta. Tämä on plakin kasvukeskus. Se sisältää runsaasti T-soluja, makrofageja ja syöttösoluja, jotka tuottavat protromboottisia sytokiineja. Jälkimmäiset tuottavat myös proteaaseja, jotka heikentävät sidekudoskaton rakennetta. (17,20)

Plakin sisäiset uudissuonet voivat vuotaa plakin sisään. Nämä uudissuonet vaurioituvat herkästi, koska niissä ei ole endoteelia tukevia perisytyttejä. Plakin sisäinen verenvuoto ja sitä seuraava hematooma kaventaa suonta entisestään ja voi aiheuttaa iskemiaa suonen suonittamiin perifeerisiin kudoksiin. (13)



**Kuva 3: AHA-leesiotyypit I-IV**

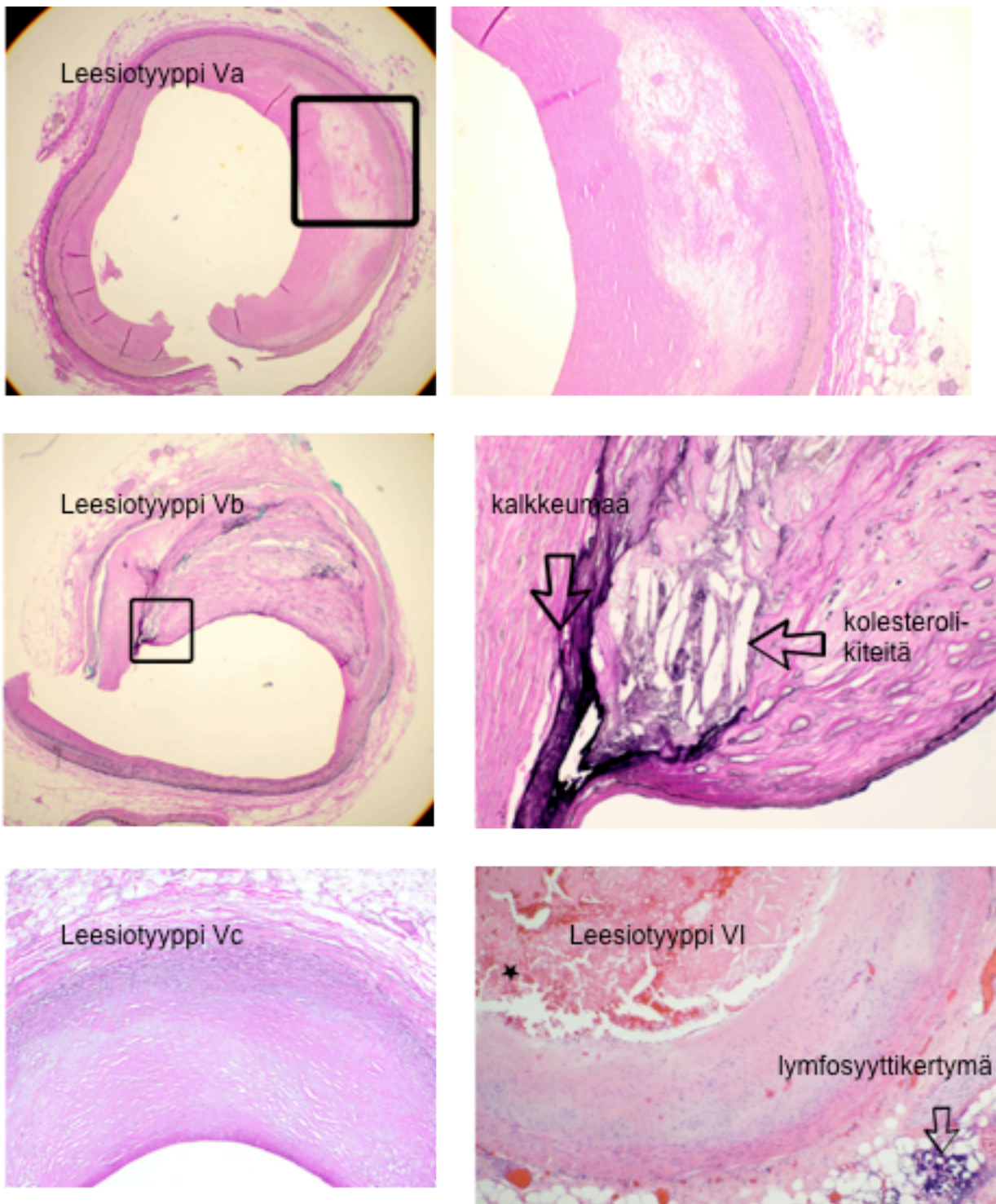
Tyypissä I näkysissä intiman paksuuntumaa ja yksittäisiä vaahtosoluja (4x ja 40x suurennos).

Tyypissä II nähdään keskittymä vaahtosoluja (10x ja 40x suurennos).

Tyypissä III nähdään pieniä rasvalammikoita (10x suurennos).

Tyypissä IV nähdään rasvaydin (10x suurennos).

Kuvissa Voerhoff van Gieson -värjäys.



**Kuva 4: AHA-leesiotyyppit V-VI**

Tyypissä Va nähdään aterooman ja suonen lumenin väliin kehittynyt sibroottinen sidekudoskatto. (4x ja 10x suurennos).

Tyypissä Vb nähdään tumman violetiksi värjäytyvää kalkkeumaa. Lähikuvassa nähdään lisäksi sukkulamallisia kolesterolikiteitä plakin sisällä ja plakin ohut hartia-alue (4x suurennos ja 10x suurennos).

Tyypissä Vc ei ole selkeää rasvaydintä nähtävissä, intima on fibrotisoitunut (10x suurennos)

Tyypissä VI nähtävissä useampia vaaleampia alueina näkyviä ateroomia, kolesterolikiteitä, trombi (tähti), lymfosyyttejä diffuusisti intimassa sekä suuri lymfosyyttikertymä (nuoli) adventitiassa, sopien tertiääriseksi lymfosyyttikertymäksi. (10x suurennos). Kuvissa Voerhoff van Gieson -värjäys, lukuunottamatta kuvaa leesiotyyppistä VI, jossa Hematoksyliini-eosiini -värjäys.

## 2.2 Tulehdusteoria

Ateroskleroottiset plakit koostuvat suurelta osin rasva-aineista eli lipideistä. Pitkään oletettiin ateroskleroosin johtuvan rasva-aineiden kerääntymisestä valtimon seinämään ja tästä seuranneesta endoteelivauriosta tai endoteelin toimimattomuudesta (response-to-injury –teoria). (14) Viimeisten vuosikymmenien aikana tehty tutkimustyö on kuitenkin selvittänyt, että plakin sisällä on käynnissä lukuisia aktiivisia prosesseja. Ateroskleroosia pidetään nykykäsityksen mukaan tulehdussairautena. Tulehdusreaktion tavoite on poistaa reaktion aiheuttaja. Mikäli tämä ei onnistu, eikä kudosa palaudu normaalitilaan, voi tulehdus kroonistua. (14,17)

### 2.2.1 Ateroskleroosin tulehdukselliset mekanismit

Vallassa olevan hypoteesin mukaan intimassa olevat LDL-partikkelit saavat aikaan tulehdusreaktion sekä luonnollisen että opitun immunitietin kautta. Solun ulkoiset LDL-partikkelit hapettuvat eriasteisesti intimassa. Tollin kaltaiset reseptorit (TLR), jotka kuuluvat hahmontunnistusreseptoreihin (pattern-recognition receptors, PRR), voivat sitoutua muuntuneeseen LDL:iin saaden aikaan ateroskleroosia edistävien sytokiinien erittymisen. Hapettunut LDL aktivoi endoteelisoluja tuottamaan adheesiomolekyylejä (muun muassa VCAM-1 ja E-selektiini), jotka yhdessä sytokiinien kanssa houkuttelevat intimaan dendriittisoluja, monosyyttejä ja T-soluja. (18,21)

Dendriittisolut esittelevät LDL:n peptidifragmentteja naiiveille T-soluille imusolmukkeissa, jolloin T-solut aktivoituvat ja erilaistuvat. T-solujen alatyyppejä tunnetaan useita, mutta ateroskleroosin kannalta tärkeimmät tiedossa olevat alatyypit ovat Th1, säätelijä-T-solu (Treg) ja Th17. (18)

Erilaistumisen jälkeen T-solut vapautuvat verenkiertoon. Endoteelin adheesiomolekyylit saavat T-solut hakeutumaan plakkeihin, jossa ne aktivoituvat uudelleen. Th1-tyypin T-solut tuottavat suuria määriä tuumorinekroositekijää ja gammainterferonia. Tämän seurauksena muun muassa endoteelin adheesiomolekyylit ja makrofagien toiminta lisääntyvät ja sileälihassolujen kollageenimuodostus vähenee. Tämä johtaa tulehdusreaktion lisääntymiseen ja plakin stabiiliuden vähenemiseen. (18) Gammainterferonin osuutta pidetään erittäin keskeisenä ateroskleroosin patologiassa (22).

Treg-solut tuottavat kudiskasvutekijä  $\beta$ :aa, jolla on plakissa tulehdusreaktiota hillitsevä vaikutus. Näin ollen säätelijä-T-solut toimivat Th1-solujen vastavaikuttajina stabiloiden plakkia. (18)



Th17-solut tuottavat muun muassa interleukiinia 17 (IL-17) ja interleukiinia 6 (IL-6). IL-17:ää pidetään osallisena useissa autoimmuunitaudeissa, mutta sen vaikutus ateroskleroosissa on vielä epäselvä. Tutkimustulokset ovat keskenään ristiriitaisia. Ilmeisesti mikroympäristöstä riippuen se voi lisätä tai vähentää gammainterferonin määrää, jolloin se vastaavasti joko pahentaa tai lieventää ateroskleroottista plakkia. IL-17:llä on havaittu kuitenkin olevan fibrotisoiva vaikutus, mikä parantaa plakin stabiiliutta. (18,22)

Vahtosoluihin voi kolesterolista muodostua mikrokiteitä, mikä saa solun erittämään interleukiini 1 $\beta$ :aa (IL-1 $\beta$ ). IL-1 $\beta$  vuorostaan indusoi useiden muiden tulehdusta ylläpitävien sytokiinien (muun muassa IL-6:n) tuotantoa. Se myös edistää adheesioproteiinien ja metalloproteiinaasien tuotantoa. Tämä puolestaan johtaa monosyyttien ja T-solujen lisääntyneeseen migraatioon verenkierrasta intimaan sekä sidekudoskatossa olevan kollageenin heikkenemiseen. (18,21,23)

Efferosytoosi, eli apoptoottisten solujen poistaminen fagosytoosin kautta, heikentyy ateroskleroosin edetessä. Tämän johdosta plakkiin kertyy nekroottista kudosta. (24) Nekroosin yhteydessä solusta vapautuu muun muassa lämpöshokkiproteiini 60:tä (hsp60) (21).

Leukotrieenien on todettu kasvattavan plakkien kokoa ja lisäävän tulehdusreaktiota. Endoteelivaurion jälkeinen suonen kaventuminen on voimakkaampaa leukotrieenien vaikutuksesta. Leukotrieenien vastavaikuttajana toimii 12/15 lipo-oksygenaasireitin tuotteet: lipoksiinit ja resolviinit. (18) Nämä vähentävät neutrofiilien migraatiota ja aktiivisuutta tulehduskudoksessa (25).

### 2.2.2 Infektio ja ateroskleroosi

Infektion yhteyttä ateroskleroosiin on spekuloitu ja tutkittu. Hypoteeseja on useita. On ajateltu, että patogeeni voisi paikallisesti pahentaa tulehdusreaktiota suonen seinämässä. Tätä suoran reitin hypoteesia tukee se, että plakeista on onnistuttu eristämään bakteereja ja viruksia tai niiden nukleiinihapporakenteita. (26)

Epäsuoran vaikuttamisen hypoteesissa ajatellaan, että toisaalla sijaitseva infektio vahvistaa plakin tulehdusreaktiota joko sytokiinimyrskyn ja akuutin faasin proteiinien välityksellä tai hetkellisen bakteremian kautta. On myös pidetty mahdollisena, että kyseessä olisi ristireaktio johtuen molekyylien samankaltaisuudesta (molecular mimicry), jossa mikrobin aktivoima hankittu immunitetti tunnistaisi autoantigeenin, kuten muunnetun LDL:n tai hsp60:n. (26)

Nousevana teoriana on tulehdustaakan hypoteesi. Tulehdusreaktion aiheuttajana ei olisikaan mikään yksittäinen patogeeni, vaan useamman mikro-organismin aikaansaama yhteisvaikutus, joka pahentaa plakkia. (26)

Tutkimuksen kohteena on ollut lukuisia patogeeneja muun muassa *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, sytomegalovirus ja HI-virus, sekä lukuisia periodontaalisia bakteereja kuten *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Streptococcus sanguis*, *Fusobacterium nucleatum* ja *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. (4,26,27) Tutkimuksissa on löydetty patogeeneille ominaisia piirteitä, jotka edesauttavat tulehdusreaktion syntymistä. Useat tutkituista mikro-organismeista omaavat kyvyn tunkeutua verisuonen solujen sisään. Invaasiokyvyn tärkeys tulehduksen provosoimisessa on korostunut verratessa bakteerin (*P. gingivalis*) fimbriallista ja fimbriatonta muotoa. Sekainfektiota tutkittaessa todettiin, että useampien patogeenien läsnäolo voi lisätä niiden invaasiokykyä. (27)

Patogeenit vaikuttavat tulehdusreaktioon erilaisilla tavoilla. Solun sisältä käsin patogeeni voi aikaansaada Tollin kaltaisten reseptorien ilmentymisen ja sytokiinien erittymisen. Endoteelisolujen aktivointia on nähty periodontaalibakteeri-infektioiden yhteydessä, jolloin solu alkoi tuottaa adheesiotekijöitä. Autoimmunitettia on myös tutkittu ja ristiinreagointia on raportoitu *P. gingivalis* -bakteerin ja hsp60:n välillä. (27)

# TUTKIMUS

## 1 Aineisto

Aineistona käytetään oikeuslääketieteellisten ruumiinavausten yhteydessä otettuja sepelvaltimonäytteitä. Näytteet on kerätty Tampereella vuosina 2001-2004 osana Tampereen sepelvaltimotutkimusta (Tampere Coronary Study, TCS). Tutkimuksessa käytettävät näytteet on kerätty 111:lta vainajalta. Näytteitä ei valittu iän, sukupuolen tai kuolinsyyn mukaan.

Tutkimus on Tampereen yliopistollisen sairaalan (TAYS) eettisen toimikunnan ja Valviran hyväksymä. Oikeuslääketieteellinen obduktioaineisto on kerätty tutkimustarkoitusta varten Terveystieteiden Oikeusturvakeskuksen myöntämällä luvalla.

## 2 Menetelmät

### 2.1 Näytteiden keräys, säilytys ja käsittely

Kaksi noin senttimetrin mittaista verisuoninäytettä kerättiin ruumiinavausten yhteydessä vasemmasta sepelvaltimosta. Ensimmäinen otettiin laskimon tyvestä ja toinen viisi senttimetriä distaalisemmin. Lisäksi ylemmästä suolilievevaltimosta otettiin pidempi kontrollinäyte. Jokaisen potilaan näytteet kerättiin omaan näyteputkeensa.

Näytteet säilöttiin 30% sakkaroosi- fosfaatti puskuroituun keittosuolaliuokseen (PBS), jossa oli natriumatsidia. Putkia on varastoitu kylmähuoneessa (+4 °C).

Näytteiden laboratoriokäsittely tehtiin noudattaen mahdollisimman aseptista tekniikkaa. Näytteiden kanssa kosketuksissa olleet pinnat ja välineet olivat tehdassteriileitä tai käsitelty 0,1M NaOH – 0,5M HCl –liuoksella.



## 2.2 Histologiset näytteet

Näytteet värjättiin Sudan IV –lipidivärillä makroskooppisia kuvauksia varten ennen histologisten preparaattien valmistusta. Sudan-värjäyksen ja makroskooppisen kuvauksen jälkeen molemmista näytteistä leikattiin pala. Varsinaiseksi tutkimusnäytteeksi valittiin suoni, jossa plakki oli vaikeampi-asteinen. Toinen suoni käsiteltiin kontrollinäytteeksi. Jos suonissa ei ollut plakkia, valittiin tutkimusnäytteeksi halkaisijaltaan suurempi suoni. Kaikki suoninäytteet käsiteltiin samalla tavalla. Leikkausviilto kohdistettiin vaikea-asteisimman plakin kohdalle, silloin kun plakki oli silmin havaittavissa tai instrumentilla tunnusteltavissa. Leikkauspinta merkittiin vihreällä kudovärillä ja leikatut näytteet laitettiin näytekasetteihin, joita säilytettiin 30% sakkaroosi-PBS – liuoksessa jääkaapissa. Näytteet käsiteltiin histologisiksi näytelaseiksi Histola Research Oy:n toimesta. Yhdellä lasilla on kahden potilaan näytteet, eli yhteensä neljä suonon poikkileikkettä.

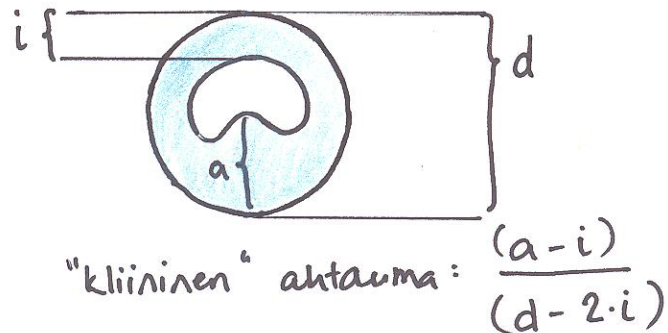
Näytteiden dekalsifointi tehtiin pH-neutraalilla EDTA-liuoksella, jonka jälkeen ne valettiin parafiiniblokkeihin ja leikattiin. Histologisille lasille asetetut näytteet värjättiin Verhoeff van Gieson –värillä, jotta elastiset säikeet värjäytyisivät tummiksi.

Leikelasien perusteella arvioitiin näytteistä Amerikan sydänyhdistyksen (AHA) ateroskleroosileesion tyyppi. Mikäli yksittäisiäkään vaahtosoluja ei ollut silmin havaittavissa, merkittiin tyyppiä normaali. Näytteistä eriteltiin onko vaahtosoluja, kalkkeumaa, kolesterolikiteitä tai lymfosyyttejä tunnistettavissa. Lymfosyyttien sijainti määriteltiin suonon kerroksen mukaan. Lisäksi otettiin kantaa lymfosyyttien runsauteen. Plakin epävakautta arvioitiin mittaamalla sidekudoksen ohuin mitta.

Histologisista preparaateista tehtiin myös valtimoahtaumamittauksia. Ahtaumamittauksia varten näytelasit kuvattiin mikroskooppiin yhdistetyllä kameralla (Olympus SZX9) ja mittaukset tehtiin tietokoneohjelman (Olympus Cell D) avulla. Ahtaumamittaukset tehtiin kahdella eri tavalla. Mittausten takana on yksinkertaistettu malli, jossa terveen suonon poikkileikkauksen ajatellaan olevan ympyrän mallinen. Täysin terveessä suonessa intima koostuu lähestulkoon vain yhdestä endoteelisolukerroksesta, jolloin intiman piirin mitta tulisi olla likimain sama kuin sisemmän kimmokalvon piirin mitta.

Kliiniseksi ahtaumaksi kutsuttu arvo määritettiin siten, että plakin paksuimmasta kohdasta mitattiin kohtisuora mitta sisempään kimmokalvoon. Sisemmän kimmokalvon pituuden mitan avulla määritettiin ympyrän halkaisija. Ahtauma laskettiin intiman paksuuntumisen suhteena halkaisijaan.

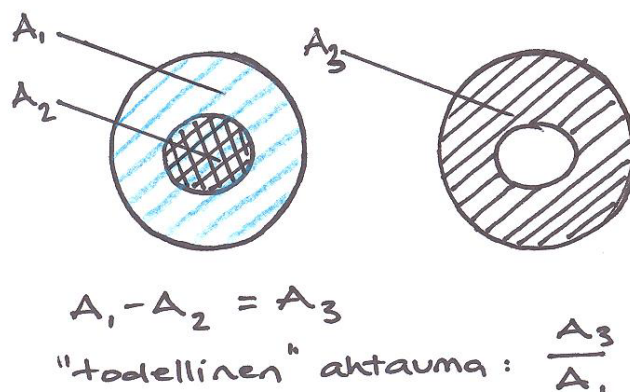
Intimasta mitattiin myös ohuimman kohdan mitta. Tämä vähennettiin kaksinkertaisena halkaisijasta ja yhdenkertaisena ahtaumasta. Taustalla oli ajatus siitä, ettei adaptiivista paksuuntumaa virheellisesti käsiteltäisi luumenia ahtauttavana ahtaumana. (kuva 5).



**Kuva 5: "Kliinisen ahtauman" laskukaava**

kuvan ulompi ympyrä on sisempi kimmokalvo ja sisempi ympyrä suonen luumen;  $i \approx$  intiman ohuin mitta;  $a \approx$  ahtauman suurin mitta;  $d \approx$  suonen halkaisija sisemmän kimmokalvon rajaamana

Todelliseksi ahtaumaksi nimitettyä arvoa laskettaessa ajateltiin suonen ahtauman jälkeisen luumenin olevan ympyrän mallinen. Endoteelin ja kimmokalvon pituusmittojen ajateltiin vastaavan piirien mittoja. Näiden avulla laskettiin ahtauman vievä pinta-ala. Ahtauman osuutta kuvaa ahtauman pinta-alan suhde sisemmän kimmokalvon sisäpuolelle jäävään pinta-alaan (kuva 6).



**Kuva 6: "Todellisen ahtauman" laskukaava**

kuvan ulompi ympyrä on sisempi kimmokalvo ja sisempi ympyrä ahtaunut luumen;  $A_1 \approx$  sisemmän kimmokalvon rajaama pinta-ala;  $A_2 \approx$  endoteelin rajaama pinta-ala; intiman pinta-ala

## 2.3 Tulosten analysointi ja tilastollinen käsittely

Tiedot kerättiin Excel-taulukkoon tutkimuksen edetessä. Muuttujat olivat sekä numeerisia että kategorisia. Kerätyt tiedot analysoitiin Statistical Package for the Social Sciences -ohjelmistolla (IBM SPSS Statistics 21.0). Numeeristen muuttujien normalisuus testattiin käyttämällä Kolmogorov-Smirnovin testiä. Vinoutuneesti jakautuneista numeerisista muuttujista otettiin 10-kantainen logaritmi, jonka jälkeen normalisuus testattiin uudelleen. Iän ja post mortem –ajan muuttujat jäivät vinoutuneiksi.

Aineistoa analysoitaessa käytettiin seuraavia testejä:

- Mann-Whitney kun numeeriset muuttujat olivat vinoutuneesti jakautuneita ja toisena muuttujana oli binomi.
- Anova numeerisen muuttujan ollessa normaalijakautunut ja toisen muuttujan ollessa kategorinen.
- Chiin neliötesti molempien muuttujien ollessa kategorisia. Pienen aineiston vuoksi usein oletukset jäivät täyttymättä, eli ruudun sisällä oli vähemmän kuin viisi tapausta. Näissä tilanteissa on käytetty Likelihood ratio:a.
- Kruskal-Wallis numeerisen muuttujan ollessa vinoutunut ja toisen muuttujan ollessa kategorinen muuttuja.
- Spearman kun toinen tai molemmat numeerisista muuttujista on vinoutuneesti jakautunut
- Pearson kahden normaalisti jakautuneen numeerisen muuttujan kanssa.

P-arvoa  $<0,05$  pidettiin tilastollisesti merkitseväenä.

## 3 Tulokset

### 3.1 Aineiston kuvaus

Tutkimusaineisto koostui alun perin 111 tapauksesta. Tarkempi kuvaus on esitelty taulukossa 1. Aineistosta rajattiin pois yhdeksän tapausta. Näistä seitsemässä oli epäily histologisten preparaattien luotettavuudesta. Kaksi tapausta rajattiin, koska ne olivat osana pilottitutkimusta, jolloin tutkimusmenetelmä ei ollut vielä vakiintunut. Rajausten jälkeen aineisto koostui 102 tapauksesta, joista miehiä oli enemmän. Naiset olivat vanhempia (miesten mediaani-ikä 62 vuotta, naisten 75 vuotta,  $p=0,004$ ). Painoindeksien keskiarvot olivat ryhmien välillä hyvin samankaltaiset, vaihteluväli oli miehillä 16,7 - 47,8 kg/m<sup>2</sup> ja naisilla 14,7 - 38,5 kg/m<sup>2</sup>.

Post mortem –aika, eli kuolemasta kulunut aika ruumiinavaukseen, oli naisilla ja miehillä keskimäärin neljä vuorokautta. Pisin aika oli kymmenen vuorokautta ja lyhin oli kuolinpäivänä tehty ruumiinavaus. Naisten kuolinsyistä puuttui yksi. Yli puolet kuolemista oli taudin aiheuttamia. Suurin yksittäinen kuolinsyyryhmä molemmissa ryhmissä oli sydän- ja verisuonitaudit (miehillä 40,5% ja naisilla 36,3%). Tapaturmaisia kuolemia ja itsemurhia oli miehillä enemmän.

**Taulukko 1: Aineiston kuvaus**

	Kaikki	Miehet	Naiset
Sukupuoli, n (%)	111 (100,0%)	76 (68,5%)	35 (31,5%)
Ikä, vuotta (md, Q1/Q3)	68 (53/77)	62 (52/75)	75 (65/81)
BMI, kg/m <sup>2</sup> (ka, SD)	27,5 (SD 6,0)	27,5 (SD 6,0)	27,4 (SD 6,1)
Post mortem -aika, vrk (ka, SD)	4 (3/5)	4,1 (SD 2,0)	4,1 (SD 1,9)
Kuolinsyy, n (%)			
Sydän- ja verisuoniperäinen	44 (40,3%)	31 (41,3%)	13 (38,2%)
Muu sairaus	23 (21,1%)	15 (20,0%)	8 (23,5%)
Tapaturmainen	28 (25,7%)	20 (26,7%)	8 (23,5%)
Suisidaalinen	10 (9,2%)	9 (12,0%)	1 (2,9%)
Muu syy	4 (3,7%)	0 (0,0%)	4 (11,8%)
Yhteensä	109 100,0%	75 (100,0%)	34 (99,9%)

### 3.2 Histologiset löydökset

Osa näytteistä jätettiin arvioimatta histologisten preparaattien huonosta laadusta johtuen.

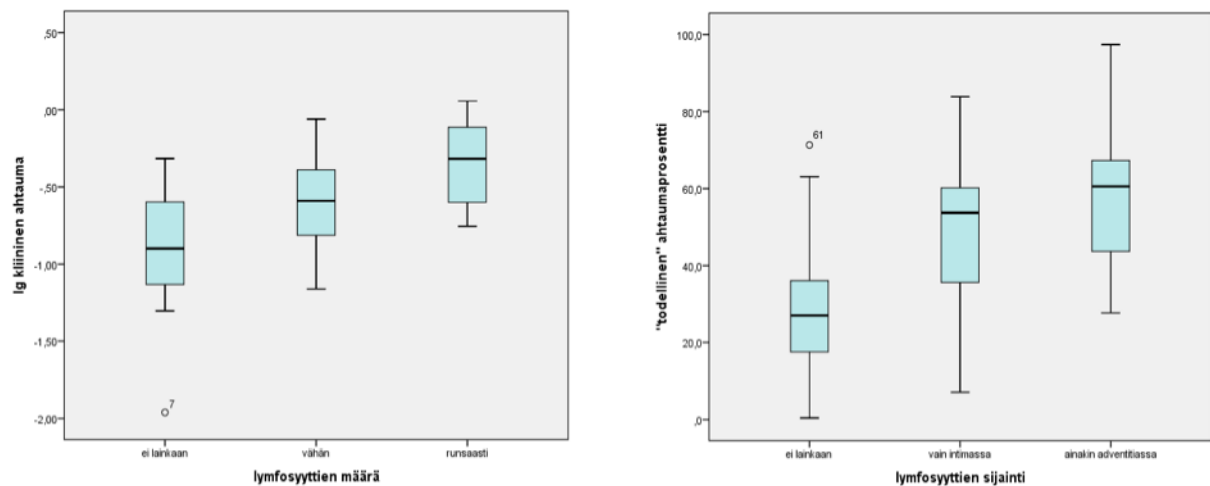
Voimakkaasti kalkkeutuneet suonet murenivat parafiiniblokkia leikatessa, eikä lasilla olevista hippusista pystytty luotettavia määrittäyksiä tekemään. Ateroskleroosin luokitteluun sopivia näytteitä oli yhteensä 88 kappaletta.

**Taulukko 2: Aineiston jakautuminen AHA-leesiotyyppeihin**

Leesiotyyppi	kaikki n (%)	miehet n (%)	naiset n (%)
normaali	12 (13,6%)	10 (16,7%)	2 (7,1%)
I	5 (5,7%)	2 (3,3%)	3 (10,7%)
II	5 (5,7%)	2 (3,3%)	3 (10,7%)
III	7 (8,0%)	5 (8,3%)	2 (7,1%)
IV	9 (10,2%)	7 (11,7%)	2 (7,1%)
Va	8 (9,1%)	5 (8,3%)	3 (10,7%)
Vb	25 (28,4%)	15 (25,0%)	10 (35,7%)
Vc	3 (3,4%)	3 (5,0%)	0 (0,0%)
VI	14 (15,9%)	11 (18,3%)	3 (10,7%)
yhteensä	88 (100,0%)	60 (100,0%)	28 (100,0%)

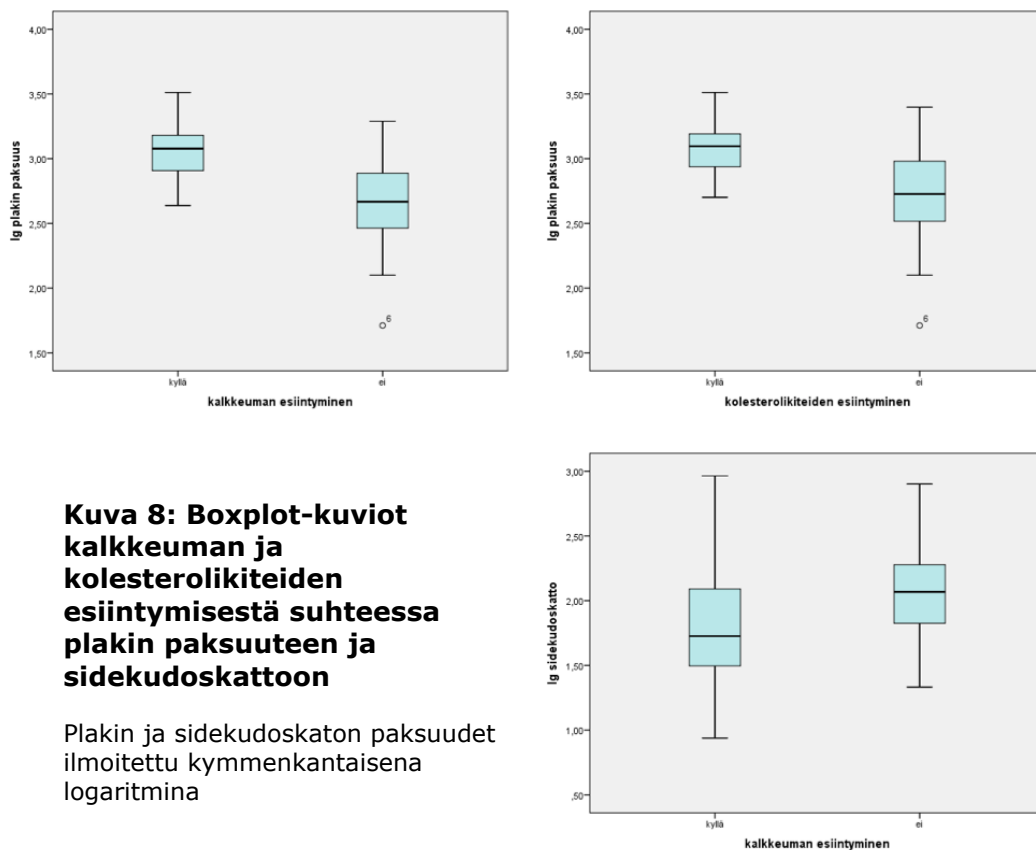
Valtaosassa näytteitä oli ateroskleroottisia muutoksia. Jakauma AHA-leesiotyyppien mukaisesti on esitelty taulukossa kaksi. Pitkälle edenneitä muutoksia (leesiotyypit IV-VI) oli 67%:ssa näytteistä. Suurin yksittäinen tyyppi oli Vb, jonka ominaispiirre on plakin sisältämä kalkkeuma. Tässä tyypissä oli suurin ero naisten ja miesten välillä (10,7%), jonka voi selittää naisten vanhempi keski-ikä. Yleisesti tyyppiluokituksen suhteen ei tilastollisesti merkitsevää eroa sukupuolten välillä ollut ( $p=0,332$ ; likelihood ratio). Tuloksista on nähtävissä iän vaikutus ateroskleroosin etenemiseen ( $p=0,015$ ). BMI:llä ei yhteyttä nähty ( $p=0,835$ ).

Leesiotyyppien normaali sekä I-IV näytteissä ei esiintynyt runsaasti lymfosyyttejä tai lymfosyyttikertymiä. Lymfosyyttien määrä lisääntyi plakin morfologian edetessä ( $p<0,001$ ; Likelihood ratio), lukuun ottamatta leesiotyyppiä Vc, jossa nähtiin hyvin vähän tulehdussoluja. Leesiotyypissä VI oli runsaasti lymfosyyttejä nähtävissä 50%:ssa näytteistä. Tulehdussolujen sijainnista määriteltiin löytyykö niitä vain intimasta vai intimasta ja/tai adventitiasta. Sijainnilla ei näyttänyt olevan selkeää kaavaa AHA-luokituksen suhteen. Lymfosyyttien määrän ja sijainnin todettiin olevan yhteydessä ahtaumaan ( $p<0,001$ ). Ahtauman kasvaessa, lymfosyyttien määrä kasvoi. Voimakkaimmin ahtautuneissa suonissa lymfosyyttejä havaittiin myös adventitiassa (kuva 7).



**Kuva 7: Lymfosyyttien määrän ja sijainnin yhteys ahtaumaan**

Ahtaumamittaustapojen välillä todettiin korrelaatio ( $R^2=0,47$ ;  $p<0,001$ ). Todellisella ja kliinisen ahtauman 10-kantaisella logaritmilla nähtiin olevan yhteys AHA-leesiotyyppeihin ( $p<0,001$ ). Tämä löydös vahvistaa ateroskleroosin perusolettamusta siitä, että rakenteellisten muutosten kehittyessä suoni ahtautuu. Paksuissa plakeissa oli usein näkyvissä kolesterolikiteitä ja kalkkeumaa ( $p<0,001$ ). Nämä piirteet olivat myös yhteydessä ahtautuneisiin suoniin ( $p<0,001$ ). Kalkkeuman esiintyminen oli myös yhteydessä ohuempaan sidekudoskattoon ( $p=0,026$ ) (kuva 8).



**Kuva 8: Boxplot-kuviot kalkkeuman ja kolesterolikiteiden esiintymisestä suhteessa plakin paksuuteen ja sidekudoskattoon**

Plakin ja sidekudoskaton paksuudet ilmoitettu kymmenkantaisena logaritmina

**Taulukko 3: Histologisten näytteiden tulokset**

Mittaukset	N	Kaikki	Miehet	Naiset	p-arvo (miehet vs naiset)
Todellinen ahtauma, % (ka;sd)	88	45,2 (SD 21,4)	45,8 (SD 21,3)	44 (SD 22,1)	0,712
Kliininen ahtauma, % (md;Q1/Q3)	88	23 (12,6/36,7)	27,4 (SD 19,3)	31,7 (SD 27,8)	0,725
Fibrous cap, µm (md;Q1/Q3)	88	40,4 (10,8/127,8)	40,4 (2,2/137,3)	48,8 (19,1/95,3)	0,369
Positiivinen löydös	N	Kaikki n (%)	Miehet n (%)	Naiset n (%)	p-arvo (miehet vs naiset)
Vahtosolujen esiintyminen	91	49 (53,8%)	36 (58,1%)	13 (44,8%)	0,238
Kolesterolikiteiden esiintyminen	91	38 (41,8%)	29 (46,8%)	9 (31,0%)	0,156
Kalkkeuman esiintyminen	92	48 (52,2%)	31 (49,2%)	17 (58,6%)	0,401
Runsaasti lymfosyytteja	91	11 (12,1%)	8 (12,9%)	3 (10,3%)	0,727
Lymfosyyttien esiintyminen ja sijainti					
ei esiinny lainkaan		28 (31,1%)	20 (32,8%)	8 (27,6%)	
vain intimassa		33 (36,7%)	20 (32,8%)	13 (44,8%)	
vain adventitiassa TAI intimassa ja adventitiassa		29 (32,2%)	21 (34,5%)	8 (27,6%)	
yhteensä	90	90 (100%)	61 (100%)	29 (100%)	0,54

N: lukukelpoisten näytteiden määrä; n: näytteiden määrä, jossa kyseinen löydös; ka: keskiarvi; SD: keskihajonta  
md: mediaani; Q1: ensimmäinen kvartiili; Q3: kolmas kvartiili

## POHDINTA

Tässä tutkimuksessa tarkasteltiin ateroskleroottisten plakkien histologisia löydöksiä ja arvioitiin niiden vaikeusastetta AHA-asteikon avulla. Lisäksi mitattiin suonen mahdollista ahtaumaa. Edellä mainittujen muuttujien keskinäisiä yhteyksiä ja suhdetta ikään, BMI:iin ja sukupuoleen arvioitiin tilastollisin analyysin.

Valtimokovettumatauti on maailmanlaajuisesti suurin yksittäinen morbiditeettia ja mortaliteettia aiheuttava sairaus. Suuri osa ateroskleroosin riskitekijöistä on liitoksissa elintapoihin. (1) Ennaltaehkäisy on sekä yksilön terveyden että kansantalouden kannalta katsottuna paras toimintatapa. Selvittämällä todellisia riskitekijöitä, voidaan valistustyötä ja muita ennaltaehkäiseviä toimia parantaa.

Ateroskleroosin yksi tunnetuimpia riskitekijöitä on obesiteetti. Tutkimuksissa on löydetty useita mahdollisia mekanismeja millä ylipainoisuus voi valtimokovettumatautia aiheuttaa.

Rasvakudoksessa muodostuu useita erilaisia välittäjäaineita, adipokiineja, joista valtaosa on tulehdusreaktiota tukevia. Ajatellaankin, että epätasapaino tulehdusta provosoivien ja hillitsevien välittäjäaineiden välillä olisi yksi tekijä ateroskleroosissa. Ylipainon katsotaan aiheuttavan myös endoteelin toimimattomuutta, muun muassa vähentyneen typpi-oksidiutannon ja lisääntyneen endoteliini-1:den kautta. Tuloksena on lisääntynyt vasokonstriktio, mikä voi johtaa hypertension syntymiseen. Oksidatiivisen stressin lisääntyminen elimistössä on liitetty obesiteettiin.

Oksidatiivinen stressi osaltaan vaikuttaa LDL:n hapettumiseen ja sitä myötä ateroskleroosin kehittymiseen. (28) Näiden tietojen pohjalta on yllättävää, ettei BMI:llä nähty olevan yhteyttä AHA-leesiotyyppitykseen tai tulehdussolujen esiintymiseen. Löydös on kuitenkin linjassa niin kutsutun BMI-paradoksin kanssa. Oikeuslääketieteellisessä ruumiinavaustutkimuksessa havaittiin, että lähes puolella naisista ja miehistä, joilla BMI oli yli 40kg/m<sup>2</sup> oli sepelvaltimoissa korkeintaan rasvajuosteita. Sydänperäinen kuolinsyy liitettiin useammin kardiomyopatiaan kuin sepelvaltimotautiin. (29) Tutkimuksessamme BMI:llä havaittiin yhteys kolesterolikiteiden esiintyvyyteen, mutta tämä löydös ei ollut tilastollisesti merkitsevä.

Ateroskleroottiset muutokset, erityisesti kalkkeuma, lisääntyvät iän myötä (30). Aineistossa iän mediaani oli rajausten jälkeen 69 vuotta. Suurin yksittäinen AHA-leesiotyyppi oli Vb, koska kalkkeumaa sisältävät näytteet kuuluvat kaikki tähän luokkaan. Tutkimustuloksemme vahvistivat, että iällä on vaikutus ateroskleroosin syntymiseen. Miehillä on todettu olevan enemmän suonten



kalkkeumaa 60 ikävuoteen asti (30). Kuitenkin tässä tutkimuksessa esiintyi kalkkeumaa enemmän naisten näytteissä. Tämän selittänee naisten korkeampi keski-ikä.

Tulehdusteoria on, nykykäsityksen mukaan, yleisesti hyväksytty selitys ateroskleroosin synnylle. Tulehduksen laatua ja sen aiheuttajia on yritetty selvittää useilta osa-alueilta. Esimerkiksi obesiteetista, suoliston epäedullisesta mikrobifloorasta tai kroonisesta ientulehduksesta johtuvaa matalan tason kroonista tulehdusta ja sen yhteyttä plakkien kehittymiselle on tutkittu. Konsensus vallitsee sen suhteen, että tulehdussoluilla, muun muassa makrofageilla ja T-lymfosyyteillä, on keskeinen osa tulehdusreaktion synnyssä. (4,28,31) Löydös lymfosyyttien esiintymisestä lisääntyvässä määrin plakin morfologian edetessä on looginen. Kroonisen lymfosyyttivaltaisen tulehduksen seurauksena nähdään eri kudoksissa niin kutsuttua tertiääristä imukudosta, eli keskuksia, joissa on muun muassa lymfosyyttikertymiä (32). Lymfosyyttien sijainnin yhteys ahtauman suuruuteen ja kalkkeumaan on mielenkiintoinen. Yksittäisistä näytteistä adventitia oli kuoriutunut irti, eikä lymfosyyttien esiintyvyyttä voitu tällöin adventitian osalta arvioida. Tavora ym. (2010) on tutkimuksessaan löytänyt tilastollisesti merkitsevän yhteyden lymfosyyttiesiintymien ja ahtauman sekä sidekudoskaton ohuuden välillä. Kalkkeuman suhteen ei heidän tutkimuksessaan yhteyttä ollut. (33) Tutkimuksemme tulokset ovat ahtauman suhteen samansuuntaiset, mutta kalkkeuman ja sidekudoskaton osalta eriävät. Tuloksissamme kalkkeuma lisäsi lymfosyyttien määrää ( $p=0,004$ ) sekä adventitiaalista sijaintia ( $p=0,005$ ). Sidekudoskaton suhteen ei yhteyttä löytynyt (määrä:  $p=0,319$  ja sijainti:  $p=0,747$ ). AHA-leesiotyypissä Vc nähtiin poikkeavan vähän lymfosyyttejä, tukien ajatusta fibrotisoituneen plakin stabiiliudesta. Tavora ym. (2010) havaitsivat myös tutkimuksessansa vähiten lymfosyyttejä fibrotisoituneissa plakeissa (33).

Sepelvaltimoiden kalkkeutuminen on yhdistetty kohonneeseen sydänpäätetapahtumarisktiin. Kalkkeutunut plakki on jäykempi ja suuret kalkkeumat esiintyvät usein ahtautuneissa suonissa. Plakin repeämistä edesauttavat monet seikat, kuten aterooman suuri koko, nekroottinen lipidikeskus, suuri makrofagitiheys plakin hartia-alueilla, ohentunut sidekudoskatto, ja kalkkeuman esiintyminen. Sidekudoskatossa olevien mikrokalkkien on havaittu altistavan plakin repeytymiselle plakin paksuudesta huolimatta. Tämän ajatellaan johtuvan muuttuneista virtausolosuhteista ja painevaikutuksista suonen seinämään. (34) Aikaisemmin kalkkeutumisen ajateltiin olevan passiivinen prosessi, mutta nykytutkimuksen valossa se on osoittautunut aktiiviseksi, luun muodostukseen verrattavissa olevaksi prosessiksi. Inflammaatiolla on havaittu kalkkeutumista kiihdyttävä vaikutus (30). Kalkkeuman havaittiin olevan yhteydessä ohuempaan sidekudoskattoon. Tällaista yhteyttä ei aikaisemmin ole raportoitu. Taustalla saattaa olla biomekaaniset voimat, jotka

ohentavat sidekudoskattoa erityisesti hartia-alueilta. Toisaalta kalkkeumaankin liitetty tulehdusreaktio voi selittää ilmiön tulehdusreaktioon kuuluvien proteolyyttisten entsyymien kautta.

Aineisto koostui Suomessa kuolleista, oikeuslääketieteelliseen ruumiinavaukseen päätyneistä henkilöistä. Asetelma itsessään saattaa aiheuttaa vinoumaa sulkiessaan pois tavanomaisia tautikuolemia. Yleistettävyyys muihin etnisiin ryhmiin saattaa olla heikkoa. Näytteitä käsittelivät useat eri henkilöt, joten riski näytteiden sekaantumisille on suuri. Ongelmalliseksi osoittautui vainajan näytteiden säilytys yhdessä näyteputkessa. Sepelvaltimonäytteistä oli vaikea päätellä kumpi on otettu vasemman sepelvaltimon tyvestä.

Sary ym. (1992) havaitsivat, että suoni vetäytyy kasaan noin kolmanneksen kun se on irrotettu ympäröivästä tukikudoksesta. Vetäytyessään se saattaa antaa vaikutelman ahtaumasta, vaikka todellisuudessa näin ei olisikaan. Suositus olisikin, että näytteet fiksoitaisiin siten, että niiden sisällä olisi henkilölle ominainen keskipaine (MAP). (10) Käytäntö standardoisi näytteet ja ne olisivat keskenään ahtauman suhteen vertailukelpoisia. Kuolemaa edeltäneestä keskiverenpaineesta on kuitenkin vain harvoissa tapauksissa tietoa. Toisaalta ruumiinavaukseen kuuluu koronaarivaltimoiden tarkastelu trombien poissulkemiseksi, joten suositeltu fiksaatiomenetelmä ei tähän yhteyteen soveltuisi. Mahdollista kasaan vetäytymistä yritettiin huomioida mittaamalla sekä sisemmän kimmokalvon että endoteelin pituus mahdollisimman tarkasti, oikomatta mutkia. Intiman paksuusmitta voi kuitenkin olla virheellisen suuri kasaan vetäytymisen johdosta.

Ahtaumamittausten luotettavuus on kyseenalaista. Adaptiivista intiman paksuuntumaa on vaikea olla tulkitsematta väärin. Toisaalta plakit tyypillisesti muodostuvat kohtiin, joissa alussa on adaptiivista paksuuntumaa. Ahtaumalaskelmissa käytetyt matemaattiset mallit ovat voimakkaasti yksinkertaistettuja aiheuttaen virhettä. Todelliseksi ahtaumaksi olisi ollut parempi laskea intiman todellisen pinta-alan avulla, jonka olisi voinut mitata tietokoneohjelman avulla. Mittaustapojen korrelaatio kuitenkin viittaa siihen, että molemmat mittaustekniikat kuvaavat ahtaumaa.

AHA-asteikossa on puutteita ja uutta arviointiasteikkoa on ehdotettu Amerikan sydänyhdistykselle (16). Sydänäkkikuoleman taustalla ei aina ole ahtautunut suoni, vaan seinämän repeytymä voi tulla heikentyneelle sidekudoskaton hartia-alueelle tai keskelle sidekudoskattoa, jos mikrokalkkeumia on sopivasti. (34) Tutkimuksessa mitattiin sidekudoskaton ohuin kohta, mutta mikrokalkkeumia katon sisällä ei arvioitu.

Osassa näytteitä oli haastavaa päätyä tiettyyn luokkaan. Ongelmallisinta tämä oli luokissa II-IV, jotka ovat selkeä jatkumo. Sary ym. (1995) on määritellyt kalkkeuman kuuluvan luokkaan Vb. Luokka V on fibroateroomia kuvaava luokka, jolloin plakin päällä tulisi olla selkeä sidekudoskatto havaittavissa. (15) Tutkimusaineistossa oli kuitenkin näytteitä, jotka sopivat luokkaan IV, mutta niissä oli kalkkeumaa. Valitettavasti aineiston pienuuden vuoksi näitä ei voitu erottaa omaksi luokakseen, vaan ne päädyttiin yhdistämään luokkaan Vb AHA-asteikon määritelmän mukaan.

Aika kuoleman ja näytteidenottohetken välillä ei ollut vakio kaikissa tapauksissa (0-10 vuorokautta). Ruumiiden säilytysolosuhteissakin saattaa olla eroja, esimerkiksi siinä kuinka nopeasti ne on löydetty ja toimitettu kylmäsäilytykseen. Tällä saattaisi olla vaikutus bakteerien määrään kudoksissa, joka voisi heijastua lymfosyyttiesiintymiin. Aineiston pienuuden vuoksi ei tämän vaikutusta voida arvioida. Toisaalta myös näytteiden pitkä säilytysaika voi osaltaan vaikuttaa tuloksiin. Tämän arvioimiseksi pitäisi olla riittävästi tuoreita kontrollinäytteitä.

Mielenkiintoinen lisätutkimuksen aihe voisi liittyä lymfosyyttien ja muiden tulehdussolujen esiintymiseen adventitiassa. Tutkimuksessa voisi tarkemmin määritellä tulehdussolukertymiä ja arvioida niiden sijaintia, laatua ja määrää suhteessa komplisoituneeseen plakkiin. Plakin komplisoituneisuutta arvioitaessa voisi mikrokalkkeumien sijainnin ja määrän ottaa huomioon. Lisätutkimuksia suunnitellessa voimalaskelma olisi hyvä tehdä edeltävästi. On myös muistettava, ettei syy-seuraus -suhteen arvioiminen kuoleman jälkeisillä tutkimuksilla ei ole mahdollista, vaan sitä varten tulisi tehdä seurantatutkimus.

## LÄHDELUETTELO

- (1) Barquera S, Pedroza-Tobias A, Medina C, Hernandez-Barrera L, Bibbins-Domingo K, Lozano R, et al. Global Overview of the Epidemiology of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *Arch Med Res* 2015 Jul;46(5):328-338.
- (2) Tilastokeskus. Liitetaulukko 1a. Kuolleet peruskuolemansyyn ja iän mukaan 2013, molemmat sukupuolet. 2014; Saatavissa [http://www.stat.fi/til/ksyyt/2013/ksyyt\\_2013\\_2014-12-30\\_tau\\_001\\_fi.html](http://www.stat.fi/til/ksyyt/2013/ksyyt_2013_2014-12-30_tau_001_fi.html). Luettu 18.12.2015.
- (3) Mäkijärvi M. Sydän- ja verisuonisairauksien kustannukset 2014; Saatavissa [http://www.ebm-guidelines.com/dtk/syd/avaa?p\\_artikkeli=syd00413](http://www.ebm-guidelines.com/dtk/syd/avaa?p_artikkeli=syd00413). Luettu 18.12.2015.
- (4) Campbell LA, Rosenfeld ME. Infection and Atherosclerosis Development. *Arch Med Res* 2015 Jul;46(5):339-350.
- (5) Guyton AC, Hall JE editors. Textbook of Medical Physiology. Philadelphia, Pennsylvania, USA: Elsevier Saunders; 2006. s. 249.
- (6) Kettunen R. Sepelvaltimokierto ja sepelvaltimoiden anatomia. 2014; Saatavissa [http://www.ebm-guidelines.com/dtk/syd/avaa?p\\_artikkeli=syd00010](http://www.ebm-guidelines.com/dtk/syd/avaa?p_artikkeli=syd00010). Luettu 14.12.2015.
- (7) O'Rourke M. Mechanical Principles in Arterial Disease. Hypertension 1995 July;26(1):2-9.
- (8) Moore KL, Dalley AF. Clinically Oriented Anatomy. . 5th ed.; 2006. s. 156.
- (9) Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Chapter 12, Cardiovascular system. Histology: a text and atlas. 4th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. s. 328-337.
- (10) Sary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, Glagov S, Insull W,Jr, Richardson M, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb* 1992 Jan;12(1):120-134.
- (11) Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nature Rev Immunol* 2006 Jul;6(7):508-519.
- (12) Mulligan-Kehoe MJ, Simons M. Vasa vasorum in normal and diseased arteries. *Circulation* 2014 Jun 17;129(24):2557-2566.
- (13) Insull W,Jr. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *Am J Med* 2009 Jan;122(1 Suppl):S3-S14.
- (14) Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease.[see comment]. *N Engl J Med* 1999 Jan 14;340(2):115-126.
- (15) Sary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W,Jr, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995 Sep;15(9):1512-1531.
- (16) Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000 May;20(5):1262-1275.
- (17) Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005 Apr 21;352(16):1685-1695.
- (18) Hansson GK, Libby P, Tabas I. Inflammation and plaque vulnerability. *J Intern Med* 2015 Nov;278(5):483-493.
- (19) Tóth PP. An urgent matter-identifying your patients' cardiovascular risk and improving their outcomes. Atherosclerosis: the underlying disease. *J Fam Pract* 2009 Nov;58(11 Suppl Urgent):S19-25.
- (20) Lee RT, Libby P. The unstable atheroma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997 Oct;17(10):1859-1867.
- (21) Hansson GK, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol* 2011 Mar;12(3):204-212.

- (22) Taleb S, Tedgui A, Mallat Z. IL-17 and Th17 cells in atherosclerosis: subtle and contextual roles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015 Feb;35(2):258-264.
- (23) Lundberg AM, Hansson GK. Innate immune signals in atherosclerosis. *Clin Immunol* 2010 Jan;134(1):5-24.
- (24) Tabas I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis. *Nature Rev Immunol* 2010 Jan;10(1):36-46.
- (25) Hänninen A. Akuutin tulehdusreaktion immunologinen säätely. *Duodecim* 2011;127:1679-1687.
- (26) Rosenfeld ME, Campbell LA. Pathogens and atherosclerosis: update on the potential contribution of multiple infectious organisms to the pathogenesis of atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2011 Nov;106(5):858-867.
- (27) Teles R, Wang CY. Mechanisms involved in the association between periodontal diseases and cardiovascular disease. *Oral Dis* 2011 Jul;17(5):450-461.
- (28) Lovren F, Teoh H, Verma S. Obesity and atherosclerosis: mechanistic insights. *Can J Cardiol* 2015 Feb;31(2):177-183.
- (29) Kortelainen M, Porvari K. Extreme obesity and associated cardiovascular disease verified at autopsy: time trends over 3 decades. *Am J Forensic Med Pathol* 2011 Dec;32(4):372-377.
- (30) Li JJ, Zhu CG, Yu B, Liu YX, Yu MY. The role of inflammation in coronary artery calcification. *Ageing Res Rev* 2007 Dec;6(4):263-270.
- (31) Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002 Dec 19-26;420(6917):868-874.
- (32) ) Hedman K, Heikkinen T, Huovinen P, Järvinen A, Meri S, Vaara M editors. *Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet, kirja 2*. Helsinki, Finland: Kustannus Oy Duodecim; 2011;28.
- (33) Tavora F, Kutys R, Li L, Ripple M, Fowler D, Burke A. Adventitial lymphocytic inflammation in human coronary arteries with intimal atherosclerosis. *Cardiovascular Pathology* 2010 May-Jun;19(3):e61-8.
- (34) Cardoso L, Weinbaum S. Changing views of the biomechanics of vulnerable plaque rupture: a review. *Ann Biomed Eng* 2014 Feb;42(2):415-431.